

ПРОГРАММА ЭЛЕКТИВНОГО КУРСА «Химия органических кислот и белковых препаратов»

Номинация: расширение границ дисциплин из числа обязательных предметов федерального компонента и обязательных предметов по выбору

Автор программы:

Коряковская Мария Викторовна,
преподаватель Государственного автономного
образовательного учреждения Самарской области
«Новокуйбышевский нефтехимический техникум»

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА К ПРОГРАММЕ

Элективный курс представляет собой *расширение границ дисциплин из числа обязательных предметов федерального компонента и обязательных предметов по выбору.*

Цель – расширить знания учащихся по темам «органические кислоты», «белки» и «белковые препараты».

За основу программы «Химия органических кислот и белковых препаратов» была взята программа одноименного элективного курса, по которой в 2014-2015 учебном году прошли обучение студенты 2 курса химического профиля государственного автономного профессионального образовательного учреждения Самарской области «Новокуйбышевский нефтехимический техникум» (далее – ГАПОУ СО «ННХТ»). Программа была доработана для школьной программы старших классов государственного бюджетного общеобразовательного учреждения Самарской области средней общеобразовательной школы № 8 «Образовательный центр» города Новокуйбышевска (далее – ГБОУ СОШ № 8). С ГБОУ СОШ № 8 был заключен договор на проведение данного элективного курса в 2015 – 2016 учебном году.

Элективный курс «Химия органических кислот и белковых препаратов» предназначен для учащихся 11-х классов и имеет прикладной характер. Содержание курса опирается на знания и умения, полученные учащимися в курсе биологии, при изучении его реализуются также межпредметные связи с химией и экологией.

Анализ запросов учеников показал, что для них важно прикладное содержание биологии и химии, связь этих предметов с производством. Особый интерес они имеют к производствам, работающим на территории муниципалитета. Как показал опыт, более 80% учащихся, освоивших программу курса, осознанно делают выбор своей будущей специальности. Возможность реализации курса на базе ГАПОУ СО «ННХТ» и экскурсия на Новокуйбышевский нефтеперерабатывающий завод обеспечивают профориентационную составляющую программы.

Планируемые образовательные результаты

- проводит лабораторные опыты по получению органических кислот;
- проводит лабораторные опыты по получению белковых препаратов.

Оценка планируемых образовательных результатов

Формирующее оценивание промежуточных результатов курса осуществляется в форме наблюдения за деятельностью обучающихся на занятии, проверки полученных экспериментальных данных, защита реферата по выбранной теме и оценка по тестовым заданиям. Для текущего контроля применяются индивидуальный опрос, тестирование, лабораторные работы, реферат.

По итогам освоения курса проводится тестирование, показывающее необходимые знания и понимание логики проведения лабораторных опыты по получению органических кислот и белковых препаратов.

По итогам тестирования учащиеся преподаватель делает заключение об освоении учащимся программы курса (используется бинарная система оценки «зачтено»/«не зачтено»).

Оценочные средства для итогового оценивания и для оценивания реферата (текущий контроль) представлены в Приложении 1.

Организация освоения содержания

Программа элективного курса предусматривает изучение теоретического материала, освоение методик проведения лабораторных работ, выполнение химических анализов и экспериментов, проведение экскурсий позволяет связать изучаемый курс с жизнью, способствует саморазвитию, самообразованию и самоопределению учащихся.

Содержание данного курса имеет интегрированный характер. Оно основано на расширении химических знаний и практических навыков учащихся с привлечением адаптированных для ученика фундаментальных теоретических основ других предметов: биологии, экологии и физики.

В начале освоения курса преподаватель вводит дополнительные единицы содержания, нужные для того, чтобы впоследствии выполнять лабораторные работы.

Занятия проводятся с использованием активных форм обучения:

- демонстрация типового оборудования лабораторий;
- применением мультимедийных презентаций о химическом производстве.
- занимательные эксперименты с практической направленностью.

В современном образовательном процессе все отчетливее проявляется возрастающая роль исследовательского метода в обучении – он позволяет значительно эффективнее решать задачи развития творческих способностей учащихся, укрепления интереса к предмету.

Требования к ресурсам

Для освоения курса необходимо обеспечение следующих *организационных* условий:

- Занятия проводится 1 раз в неделю после основных уроков в образовательной организации.
- Продолжительность занятий 60 минут.
- Численный состав группы учащихся – 10 человек.
- Согласованные графики экскурсий с ОАО НК «Новокуйбышевский нефтеперерабатывающий завод» и ФГБОУ ВПО «Самарский Государственный Технический Университет» и возможность организованной перевозки учащихся.

Дидактические материалы – описание лабораторных работ – представлены в Приложении 2.

Для проведения лабораторных работ необходимы следующие *материально-технические ресурсы*:

- лабораторная посуда (конические и круглодонные колбы, термометры, химические стаканы, пипетки, фарфоровые чашки, бюретки, пипетки Мора, часовые стекла, воронки, бюксы и пр.)
- рН-метр,
- расходные материалы.

Для введения новых единиц содержания и демонстраций необходимо интерактивное оборудование «Unipraktik» и мультимедийные презентации.

ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ

Тема 1. Введение

Биотехнология как дисциплина, возникшая на стыке химических, биологических наук и технических знаний. Этапы и основные направления развития биотехнологии.

Тема 2. Теоретические основы технологии органических кислот и белковых препаратов

Биотехнология органических кислот. Характеристики биотехнологической стадии производства уксусной, молочной и лимонной кислот.

Биотехнология белковых препаратов. Ферменты. Классификации, способы производства и применение ферментов в пищевой промышленности.

Тема 3. Лабораторный практикум по получению органических кислот и белковых препаратов

Лабораторная работа №1. Получение уксусной кислоты.

Лабораторная работа №2. Получение безалкогольного напитка при выращивании комплекса микроорганизмов чайного гриба.

Экскурсия «Изучение технологии производства пива и хлеба».

Лабораторная работа №3. Изучение особенностей биосинтеза лимонной кислоты при поверхностном культивировании микроскопических грибов.

Лабораторная работа №4. Влияние состава питательной среды на накопление амилазы при твердофазном культивировании микомицета.

Лабораторная работа №5. Влияние режимов выделения ферментов на выход готового продукта.

Лабораторная работа №6. Получение белковых концентратов и изолятов.

Экскурсия на нефтеперерабатывающий завод «Изучение технологии очистки воды».

Тема 4. Тестирование

Тест №1. Технология органических кислот.

Тест №2. Технология ферментных препаратов.

Тест №3. Технология белков.

УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ

№	Тема	КОЛ-ВО ЧАСОВ			
		всего	аудитор-ных	из них на практ. де-ят.	на самост. работу
1	Введение	2	2	0	0
2	Теоретические основы технологии органических кислот и белковых препаратов	2	2	0	0
3	Лабораторный практикум по получению органических кислот и белковых препаратов	26	26	20	0
4	Тестирование	4	4	4	0
ИТОГО		34	30	24	0

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бирюков, В.В. Основы промышленной биотехнологии / В.В. Бирюков. – М.: Колос, 2004.
2. Грачева, И.М. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и биоэнергия / И.М. Грачева, Л.А. Иванова, В.М. Кантере. – М.: Колос, 1992.
3. Грачева, И.М. Технология ферментных препаратов / И.М. Грачева. – М.: Агропромиздат, 1985.
4. Егорова, Т.А. Основы биотехнологии / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М.: Изд. центр «Академия», 2005.
5. Калунянц, К.А. Микробные ферментные препараты / К.А. Калунянц, Л.И. Голгер. – М.: Пищевая промышленность, 1989.
6. Кислухина, О.В. Ферменты в производстве пищи и кормов / О.В. Кислухина. – М.: Колос, 2002.
7. Манаков, М.Н. Теоретические основы промышленной биотехнологии / М.Н. Манаков, Д.Г. Победимский. – М.: Высшая школа, 1989.
8. Мосичев, М.С. Общая технология микробиологических производств / М.С. Мосичев, А.А. Складнев, В.Б. Котов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982.
9. Пищевая биотехнология: в 4 кн. / И.А. Рогов [и др.]. – М.: Колос, 2004.
10. Смирнов, В.А. Пищевые кислоты / В.А. Смирнов. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983.

ОБРАЗЦЫ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Тест №1. Технология органических кислот

1. Укажите, какое из перечисленных уравнений отражает химизм биосинтеза уксусной кислоты:

- 1) $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + E$
- 2) $C_2H_5OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O + E$
- 3) $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_4OHCOOH + E$
- 4) $C_{12}H_{22}O_{11} \rightarrow 2C_6H_8O_7 + 3H_2O + E$

2. Основным видом сырья для биотехнологического способа получения лимонной кислоты является ...

- 1) этанол
- 2) сахароза
- 3) мальтоза
- 4) меласса

3. Основным видом сырья для биотехнологического способа получения уксусной кислоты является ...

- 1) этанол
- 2) крахмал
- 3) меласса
- 4) глюкоза

4. Укажите, для получения какой из органических кислот в качестве продуцентов используют бактерии *Bacterium curvum*:

- 1) молочной
- 2) лимонной
- 3) уксусной
- 4) яблочной

5. Укажите, какую из органических кислот образуют бактерии *Bacterium schutzenbachii*:

- 1) молочную
- 2) лимонную
- 3) уксусную
- 4) глюконовую

6. Укажите, какую из органических кислот получают биотехнологическим способом в батарее реакторов:

- 1) молочную
- 2) лимонную
- 3) уксусную
- 4) итаконовую

7. Укажите, для получения какой из органических кислот в качестве продуцентов используют микроскопические грибы *Bacterium curvum*:

- 1) молочной
- 2) лимонной
- 3) уксусной

- 4) яблочной
8. Укажите, какой фермент катализирует процесс получения молочной кислоты:
- 1) алкогольоксидаза
 - 2) лактатдегидрогеназа
 - 3) лактатоксидаза
9. Продолжительность культивирования при производстве уксусной кислоты составляет ...
- 1) 1...2 сут
 - 2) 3...4 сут
 - 3) 5...6 сут
 - 4) 7...8 сут
10. Оптимальной температурой биосинтеза молочной кислоты является температура ...
- 1) 26...28 °C
 - 2) 34...36 °C
 - 3) 40...43 °C
 - 4) 48...50 °C
11. Содержание лимонной кислоты в культуральной жидкости в конце культивирования составляет ...
- 1) 3...5 %
 - 2) 5...10 %
 - 3) 12...15 %
 - 4) 18...20 %
12. Оптимальное значение pH при получении молочной кислоты составляет ...
- 1) 3,0...3,2
 - 2) 4,4...4,6
 - 3) 6,3...6,5
 - 4) 7,0...7,2
13. Какой процесс предшествует кислотообразованию при биотехнологическом способе производства лимонной кислоты:
- 1) спорообразование
 - 2) образование мицелия
 - 3) долив раствора мелассы
 - 4) аэрация
14. Укажите, каким из перечисленных способов можно получить концентрированный раствор уксусной кислоты:
- | | |
|---------------|------------------|
| 1) упаривание | 4) осветление |
| 2) перегонка | 5) вымораживание |
| 3) фильтрация | 6) диализ |
15. Укажите, каким способом очищают культуральную жидкость в производстве уксуса столового:
- | | |
|---------------|------------------|
| 1) упаривание | 4) осветление |
| 2) перегонка | 5) вымораживание |
| 3) фильтрация | 6) сепарирование |

16. Укажите, какое вещество используют для осветления уксусной кислоты:

- 1) активированный уголь
- 2) сульфид бария
- 3) гипс
- 4) бентонит

17. Какую концентрацию имеет уксусная эссенция:

- 1) 9%
- 2) 70%
- 3) 98%

18. Какую концентрацию имеет товарная форма молочной кислоты:

- 1) 20%
- 2) 40%
- 3) 60%
- 4) 80%

19. Укажите, какое вещество используют для очистки молочной кислоты:

- 1) активированный уголь
- 2) серную кислоту
- 3) гипс
- 4) бентонит

20. На какой технологической стадии в производстве молочной кислоты образуется лактат кальция:

- 1) упаривание
- 2) фильтрация
- 3) кристаллизация
- 4) сушка

21. Расставьте цифры операций в соответствии с технологией получения молочной кислоты из сброженного раствора:

- | | |
|-------------------|-------------------------------|
| 1) осветление | 2) центрифугирование |
| 3) кристаллизация | 4) разложение лактата кальция |
| 5) упаривание | 6) фильтрование |

22. Укажите название соли, которая не образует осадка при нейтрализации культуральной жидкости в производстве лимонной кислоты:

- 1) оксалат кальция
- 2) цитрат кальция
- 3) глюконат кальция

23. Какой реактив используют на стадии химической очистки, чтобы получить раствор лимонной кислоты:

- 1) активированный уголь
- 2) сульфид бария
- 3) гипс
- 4) серная кислота

24. Укажите, какая химическая реакция соответствует процессу образования осадка цитрата кальция:

- 1) $2C_6H_8O_7 + 3Ca(OH)_2 \rightarrow Ca_3(C_6H_5O_7)_2 + 6H_2O$
- 2) $2C_6H_{12}O_7 + Ca(OH)_2 \rightarrow Ca(C_6H_{11}O_7)_2 + H_2O$
- 3) $C_2H_2O_4 + Ca(OH)_2 \rightarrow CaC_2O_4 + 2H_2O$

Тест №2. Технология ферментных препаратов

1. Укажите, к какой группе химических соединений относятся ферменты:

- 1) нуклеиновые кислоты
- 2) аминокислоты
- 3) белки
- 4) липиды

2. Укажите, какой из вариантов ответов указывает на механизм каталитического действия ферментов:

- 1) увеличивает частоту столкновений молекул реагирующих веществ
- 2) повышает внутримолекулярную энергию веществ
- 3) ослабляет внутримолекулярные связи молекулы субстрата

3. Укажите, к какому классу относятся ферменты, катализирующие реакции окисления и восстановления:

- | | |
|----------------|--------------------|
| 1) лиазы | 2) лигазы |
| 3) гидролазы | 4) оксидоредуктазы |
| 5) трансферазы | 6) изомеразы |

4. Укажите, к какому классу относятся ферменты, катализирующие реакции гидролитического расщепления сложных органических соединений:

- | | |
|--------------------|----------------|
| 1) оксидоредуктазы | 2) трансферазы |
| 3) гидролазы | 4) лиазы |
| 5) изомеразы | 6) лигазы |

5. Укажите, к какому классу относятся ферменты, катализирующие реакции переноса атомных группировок от одного соединения к другому:

- | | |
|--------------------|----------------|
| 1) оксидоредуктазы | 2) трансферазы |
| 3) гидролазы | 4) лиазы |
| 5) изомеразы | 6) лигазы |

6. Укажите, к какому классу относятся ферменты, катализирующие реакции негидролитического расщепления:

- | | |
|--------------------|----------------|
| 1) оксидоредуктазы | 2) трансферазы |
| 3) гидролазы | 4) лиазы |
| 5) изомеразы | 6) лигазы |

7. Укажите, какая часть в наименовании ферментного препарата Пектофоетидин ГЗх указывает на его основной фермент:

- 1) ин
- 2) пект
- 3) фоетид
- 4) Г
- 5) Зх

8. Укажите, какая часть в названии ферментного препарата Амилоризин П10х указывает вид продуцента:

- 1) ин
- 2) 10х
- 3) амил
- 4) ориз
- 5) П

9. Укажите, какая часть в названии ферментного препарата Амилоризин П10х указывает на степень очистки:

- 1) ин
- 2) 10х
- 3) амил
- 4) ориз
- 5) П

10. Укажите, какая часть в названии ферментного препарата Амилоризин П10х указывает на способ ферментации его продуцента:

- 1) ин
- 2) 10х
- 3) амил
- 4) ориз
- 5) П

11. Укажите место локализации экзоферментов при ферментации их продуцента:

- 1) внутри клеток
- 2) в культуральной жидкости
- 3) в биомассе

12. Назовите группу микроорганизмов, которые используют при твердофазной ферментации в технологии производства ферментов:

- 1) актиномицеты
- 2) бактерии
- 3) грибы
- 4) дрожжи

13. Укажите тип посевного материала, используемый для засева питательных сред при глубокой ферментации продуцентов-ферментов:

- 1) спорый
- 2) поверхностная культура
- 3) вегетативный

14. Какие функции выполняет воздух, подаваемый на аэрацию при твердофазном культивировании:

- 1) снабжение кислородом
- 2) отвод тепла
- 3) перемешивание
- 4) отвод CO₂
- 5) передавливание

15. Укажите, какую влажность должна иметь питательная среда при твердофазном культивировании продуцентов ферментов:

- 1) 45...50 %
- 2) 68...72 %
- 3) 58...63 %

16. Распределить операции в последовательности, необходимой для получения ферментного препарата с индексом П10х:

- | | |
|-----------------|--------------------|
| 1) фильтрование | 2) дезинтеграция |
| 3) осаждение | 4) экстракция |
| 5) осветление | 6) промывка осадка |
| 7) сушка | 8) упаривание |

17. Укажите, какие компоненты можно использовать для приготовления питательной среды при глубинном культивировании продуцентов ферментов:

- | | |
|------------------------|---------------------|
| 1) пшеничные отрубы | 2) крахмал |
| 3) кукурузный экстракт | 4) минеральные соли |
| 5) свекловичный жом | 6) кукурузная мука |
| 7) меласса | |

18. Укажите, какие технологические операции и в какой последовательности необходимо выполнить для получения ферментного препарата с индексом Г10х:

- | | |
|----------------|------------------|
| 1) экстракция | 2) фильтрование |
| 3) осветление | 4) упаривание |
| 5) охлаждение | 6) осаждение |
| 7) отстаивание | 8) сепарирование |
| 9) сушка | |

19. Какой из нижеперечисленных реагентов чаще всего применяется на практике для выделения ферментов из культуральной жидкости, экстракта:

- | | |
|--------------------|------------------|
| 1) сульфат аммония | 2) метанол |
| 3) этанол | 4) хлорид натрия |
| 5) изопропанол | 6) сульфат цинка |

20. Какая из перечисленных технологических стадий не требуется при выделении ферментов из вытяжки поверхностной культуры гриба, но необходима при выделении из культуральной жидкости:

- 1) осветление
- 2) охлаждение
- 3) осаждение
- 4) концентрирование

21. Как называется технологическая операция, обеспечивающая разделение смеси ферментов:

- 1) высаливание
- 2) фракционное осаждение
- 3) сепарирование
- 4) фильтрование

22. При реализации какого из перечисленных методов наблюдается потеря растворимости белковых молекул, что и используется при выделении и очистке ферментов:

- | | |
|-----------------|---|
| 1) электрофорез | 2) ультрафильтрация |
| 3) диализ | 4) осаждение органическими растворителями |
| 5) адсорбция | 6) гельхроматография |

23. Укажите, какие химические соединения используют фракционировании ферментных растворов:

- 1) KH_2PO_4
- 2) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- 3) CH_3COOH
- 4) $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- 5) $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
- 6) $\text{CH}_3-(\text{NH}_2)-\text{COOH}$

24. Сольватная оболочка фермента разрушается, если ...

- 1) изменяется полярность среды
- 2) энергия связи растворителя и воды меньше энергии связи между диполями воды и фермента
- 3) молекулы воды теряют растворимость и коагулируют

25. Из перечисленных технологических операций в производстве ферментов назовите следующую за высаливанием:

- | | |
|-----------------|---|
| 1) электрофорез | 2) ультрафильтрация |
| 3) диализ | 4) осаждение органическими растворителями |
| 5) адсорбция | 6) гельхроматография |

26. Какой из нижеперечисленных органических растворителей не следует использовать в технологии производства очищенных ферментных препаратов для пищевых производств:

- | | |
|-----------|----------------|
| 1) ацетон | 2) изопропанол |
| 3) этанол | 4) метанол |

27. Какой из перечисленных органических растворителей при осаждении дает трудно высушиваемые осадки ферментов:

- 1) ацетон
- 2) изопропанол
- 3) этанол
- 4) метанол

28. Какая из перечисленных технологических операций позволяет разделить ферменты по молекулярной массе:

- | | |
|-----------------|---|
| 1) электрофорез | 2) ультрафильтрация |
| 3) диализ | 4) осаждение органическими растворителями |
| 5) адсорбция | 6) гельхроматография |

29. Какой из перечисленных методов эффективен для удаления низкомолекулярных соединений и ферментных растворов:

- | | |
|-----------------|---|
| 1) электрофорез | 2) ультрафильтрация |
| 3) диализ | 4) осаждение органическими растворителями |
| 5) адсорбция | 6) гельхроматография |

30. Укажите, какие из перечисленных технологических операций являются завершающими в технологии ферментных препаратов:

- 1) сепарирование
- 2) сушка
- 3) промывка осадка
- 4) охлаждение
- 5) стандартизация
- 6) смешение

Тест № 3 «Технология белков»

1. Какая из трех белкосодержащих добавок содержит 85% сырого протеина:

- 1) белковый изолят
- 2) белковый концентрат
- 3) белковый продукт

2. Укажите наименования культур растений, плоды которых наряду с микробной биомассой используют для получения белоксодержащих добавок:

- | | |
|-----------------|--------------------|
| 1) отруби | 2) соя |
| 3) зародыш | 4) чечевица |
| 5) табак | 6) клевер |
| 7) подсолнечник | 8) сахарная свекла |
| 9) горох | 10) овес |

3. Какой экстрагент используют для выделения белка из пшеничных отрубей:

- 1) питьевая вода
- 2) раствор щелочи
- 3) раствор кислоты
- 4) рассол
- 5) сироп

4. Обработка каким БАВ повышает выход белка из продуктов переработки зерна:

- 1) витамины
- 2) флавоноиды
- 3) ферменты
- 4) гормоны
- 5) аминокислоты

5. Разместите номера технологических операций в соответствии со схемой получения белоксодержащих добавок из листо-стебельной массы растений:

- | | |
|------------------|--------------------------------------|
| 1) сушка пасты | 4) отжим биомассы |
| 2) измельчение | 5) разделение скоагулированного сока |
| 3) сгущение сока | 6) коагуляция белков |

6. Какие способы очистки белков от углеводов используют в производстве соевых белковых концентратов:

- 1) фильтрование
- 2) кислая промывка
- 3) влаготепловая обработка
- 4) высаливание
- 5) осмос
- 6) экстракция спиртовым раствором
- 7) вымораживание

7. Какая из технологических операций получения соевого изолята требует достижения изоэлектрической точки:

- 1) обезжиривание
- 2) экстракция
- 3) осаждение
- 4) промывка раствором HCl

8. Какие из перечисленных методов используют для разделения крахмала от белка при получении клейковины пшеницы как белковой добавки:

- 1) химический метод
- 2) ферментный катализ
- 3) перегонка
- 4) ферментный гидролиз
- 5) центрифугирование
- 6) фильтрация

9. Какие из перечисленных ферментов участвуют в автолизе и лизисе биомассы при получении белковых препаратов из дрожжей:

- 1) амилазы
- 2) протеазы
- 3) целлюлозы
- 4) липазы
- 5) пектиназы
- 6) оксидоредуктазы

10. По каким параметрам можно судить о завершении автолиза дрожжей:

- 1) концентрации сухих веществ
- 2) температура смеси
- 3) pH среды
- 4) отсутствие роста клеток
- 5) содержание аминного азота
- 6) NH_2 среды

11. Какие условия способствуют автолизу дрожжей:

- 1) pH 7,0...7,5; $t = 60...65$ °C; СВ = 1...5 %; $\tau = 5...6$ ч
- 2) pH 4,5...5,0; $t = 55...60$ °C; СВ = 5...8 %; $\tau = 4...5$ ч
- 3) pH 5,5...6,5; $t = 45...53$ °C; СВ = 10 %; $\tau = 15...30$ ч

12. Какие из органических растворителей предлагают использовать при проведении автолиза дрожжей:

- 1) этанол
- 2) толуол
- 3) хлороформ
- 4) эфир
- 5) ацетон
- 6) пропанол

13. Какими методами пользуются для удаления из автолизата дрожжей нуклеиновых кислот:

- 1) центрифугирование
- 2) осмос
- 3) сорбцию
- 4) экстракцию
- 5) осаждение

14. Какие аминокислоты преобладают в готовом автолизате дрожжей:

- 1) треонин
- 2) гистидин
- 3) аланин
- 4) глицин
- 5) фенилаланин
- 6) лизин
- 7) изолейцин
- 8) лейцин

15. Отходы какого производства служат хорошим сырьем для получения пищевых добавок путем лизиса:

- | | |
|---------------------------|---------------------|
| 1) молочнокислые бактерии | 2) аминокислоты |
| 3) пивные дрожжи | 4) спиртовые дрожжи |
| 5) базидиальные грибы | 6) этилового спирта |

16. Какой из перечисленных отходов получения автолизата служит хорошей добавкой для префиксов для сельского хозяйства, звероводства, рыбоводства:

- 1) клеточные стенки
- 2) нуклеиновые соединения
- 3) промывные воды

17. Как называют дрожжевую клетку после удаления лизисом у нее оболочки:

- 1) протеолиз
- 2) протеаза
- 3) протопласт
- 4) хлоропласт
- 5) плазмолитис

18. Какие ферменты можно использовать для автолиза дрожжей:

- 1) лизосубтилин
- 2) протосубтилин
- 3) пектофьетидин
- 4) амилоризин

19. Какие операции являются общими для всех технологических схем получения сухой пшеничной клейковины:

- 1) замачивание
- 2) лизис
- 3) сорбция
- 4) осаждение

20. Расставьте цифры после операций в соответствии с технологией получения шампуньонов:

- 1) стерилизация
- 2) смешивание компонентов субстрата
- 3) смешение с покровным материалом
- 4) рост мицелия
- 5) термообработка камер с субстратом
- 6) сбор урожая
- 7) плодообразование и рост плодовых тел
- 8) утилизация субстрата

Перевод баллов в отметку

Зачет ставится в том случае, если учащийся изучил учебный материал и литературу по теме, последовательно и исчерпывающе отвечает на поставленные вопросы, тестовые задания выполнены с минимальной оценкой «3», а при выполнении лабораторной работы – если задание выполнено правильно и в установленное время.

Незачет ставится в том случае, когда учащийся не смог достаточно полно и правильно ответить на поставленные вопросы по теме курса, не смог выполнить тестовые задания, а при выполнении лабораторной работы – если задание не сделано или допущены ошибки, влияющие на качество выполненной работы.

Критерии оценок тестовых заданий

«5»: 80-100% от общего числа вопросов

«4»: 70-75%

«3»: 50-65%.

Критерии оценки реферата

Работа оценивается по 5-ти бальной системе по основным блокам, оформленными в соответствии с предъявляемыми требованиями.

Введение	приведена краткая характеристика	1 балл
	обоснована актуальность темы	1 балл
	поставлена цель	1 балл
	задачи соответствуют поставленной цели	1 балл
Обзор литературы	литература отражает современное состояние исследуемой проблемы	1 балл
	грамотно оформлено цитирование и ссылки	1 балл
Заключение	сделан вывод	1 балл
	содержательные выводы соответствуют теме реферата	1 балл
Оформление	титальный лист и структура работы соответствуют требованиям	1 балл
	библиография и ссылки оформлены в соответствии с требованиями	1 балл
	иллюстрации, таблицы и приложения уместны и оформлены в соответствии с требованиями	2 балла

Темы рефератов

1. Современные биотехнологии
2. Основы клеточных биотехнологий
3. Медицинские биотехнологии
4. Генная инженерия. Получение трансгенных растений и животных.
5. Перспективные источники углерода, азота и ростовых факторов.
6. Клеточная инженерия. Культура эукариотических клеток растений и животных.
7. Базовые методы клеточной биотехнологии
8. Генно-инженерные подходы к решению проблемы усвоения азота.
9. Биотехнология получения и использования ферментов. Иммуобилизованные ферменты. Промышленные процессы с использованием иммуобилизованных ферментов и клеток.

Требования к оформлению реферата

Реферат должен быть выполнен на белых листах формата А4 (297*210мм). Текст может быть напечатан на компьютере, 14 кеглем шрифта Times New Roman, с межстрочным интервалом 1,5. Текст на каждом листе пишется только с одной стороны. Заголовки располагаются в середине строки без точки в конце; печатают прописными буквами, не подчёркивают; переносы слов в заголовках не допускаются. Опечатки, описки и графические неточности исправляют нанесением на место исправленного текста. Размеры полей: верхнее и нижнее – 20 мм; правое – 10 мм; левое – 30 мм. Страницы нумеруют арабскими цифрами, насквозь. Начинается работа с «Введения» - с. 3 (титальный лист и содержание

включаются в общую нумерацию страниц работы, но номер страниц на титульном листе и содержании не проставляется). Номера ставятся в правом верхнем углу без точки в конце.

Структура реферата обычно состоит из следующих структурных элементов, каждый из которых начинается с новой страницы:

- титульный лист
- содержание
- введение
- основная часть
- выводы (заключение)
- приложения.

Оформление титульного листа и «Содержания»

Титульный лист любого вида работы должен содержать следующую информацию:

- название образовательного учреждения
- название (тема) реферата;
- сведения об авторе: фамилия, имя, отчество, класс
- сведения о научном руководителе: фамилия, имя, отчество, должность, место работы;
- место и год написания работы.

Содержание обычно оформляется на втором листе работы. Главы (разделы) нумеруются арабскими цифрами. Нумерация подразделов двойная: сначала ставится номер раздела, затем точка, после неё – номер подраздела, точка. Например: 1.1, 1.2 и т.д. Приложения имеют свою нумерацию.

Раздел «Введение»

Введение играет огромную роль в тексте, потому что говорит читателям о содержании реферата. Его задача – привлечь внимание к теме работы. В этом разделе даётся краткая характеристика, обосновывается актуальность выбранной темы, формулируются цели и задачи. Иллюстрации и литературный обзор во введение включать не следует. Рекомендуемый объём введения - 1 страница.

Основная часть работы

Основная часть должна развивать главную мысль, обозначенную во вступлении. В ней раскрывается тема, сообщаются основные сведения. Заглавие основной части должно отражать основное содержание работы. В тексте должны быть ссылки на используемые источники. При необходимости приводятся рисунки и таблицы, так же снабжённые ссылками на источник.

Выводы (заключение)

В заключении обычно:

- подводятся итоги: достигнуты ли цели, решены ли задачи;
- формулируются выводы, суммируется сказанное.

Содержание выводов должно чётко отражать позицию автора.

Оформление списка литературы

В этом разделе в алфавитном порядке перечисляются все использованные литературные источники. Если работы изданы за рубежом, то они пишутся так же в алфавитном порядке после работ, изданных на русском языке. Все источники нумеруются в сквозном порядке. При этом в самом тексте должны быть ссылки на них. Существуют определённые библиографические правила для описания различных источников.

1. Однотомные издания

№. Фамилия, инициалы (курсивом). Названия. – Место издания: Издательство, год.

2. *Многотомные издания*

№. Фамилия, инициалы. Название: в ... т. – Место издания: Издательство, год. Том.

3. *Статьи из сборников*

№. Фамилия, инициалы. Название статьи // Название сборника. – Место издания: Издательство, год. – Страницы (от ... - до ...).

4. *Статьи из журналов*

№. Фамилия, инициалы. Название статьи // Название журнала. – Год. – Том (выпуск, номер). – Страницы (от ... - до ...).

5. *Оформление ссылок*

Ссылки оформляются по-разному – в зависимости от источника и условий конкурса (издательства). Допустимы несколько подходов к оформлению ссылок.

Постраничные ссылки оформляются в нижней части страницы, их нумерация начинается с «1» на каждой странице.

Концевые ссылки оформляются после каждой структурной единицы текста, например, после каждой главы или раздела (нумерация начинается с «1» после каждой новой главы); после всего текста.

В тексте могут быть указаны номера позиций в списке литературы, на которые ссылается автор, при этом их заключают в квадратные скобки. Рядом с номером источника можно указать номер страницы, если в тексте приводится цитата.

Оформление рисунков, таблиц, формул

Рисунки, графики, диаграммы, фотографии, схемы и т. п. – все обозначаются как рисунки, которые так же имеют сквозную нумерацию. Рисунки выполняются чёрной пастой или тушью, при использовании электронных носителей – на компьютере. Все обозначения, которые автору необходимо сделать на рисунке, отмечаются только цифрами или значками.

Под рисунком с красной строки пишется:

Рис. (номер). Название. Условные обозначения: 1 - ...; 2 - ... и т. д.

ОБРАЗЦЫ УЧЕБНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Лабораторная работа № 1 «Получение уксусной кислоты»

Цель работы: изучение культивирования уксуснокислых бактерий и определение количества образовавшейся уксусной кислоты.

Теоретические предпосылки

Для получения пищевой уксусной кислоты используется способность уксуснокислых бактерий с помощью фермента алкогольоксидазы окислять этиловый спирт. Способностью превращать этиловый спирт в уксусную кислоту обладают различные виды уксуснокислых бактерий. Типичным представителем уксуснокислых бактерий является *Acetobacter aceti*. Это мелкие бесспорные палочки, часто соединенные в цепочки, развиваются только при доступе воздуха. При промышленном получении уксусной кислоты используют *Bacterium schutzenbachii* и *Bacterium curvum*. Это грамтрицательные спорообразующие палочки, снабженные жгутиками, размером 0,4...0,8 мкм. Важным показателем является и предельная концентрация спирта в сбраживаемой среде. Для *Bacterium schitzenbachii* она составляет 6...7 об. %, для *Bacterium curvum* – 9...14 об. %.

Для выращивания *Acetobacter aceti* в лабораторных условиях используется минеральная среда Лойцянской состава, г/л:

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 1,0; KH_2PO_4 – 0,5; MgSO_4 – 0,5. Источником углерода служит этиловый спирт, добавляемый ежедневно в количестве 0,2...0,5 % от объема среды. Среда разливается тонким слоем в конические колбы с ватными пробками. Для засева используется двух-, трехсуточная культура *Acetobacter aceti* на жидкой среде. Выращивание ведется при 30 °С в течение пяти-семи суток.

В конце опыта определяется количество образовавшейся уксусной кислоты.

В стационарной культуре *Acetobacter aceti* растет на поверхности среды, образуя тонкую нежную пленку, которая по мере роста опускается на дно в виде хлопьевидного осадка. При производственном культивировании в глубинных условиях необходимо бесперебойное аэрирование, кратковременные перерывы в подаче воздуха приводят к гибели культуры. При недостатке спирта в среде накопленная уксусная кислота переокисляется до конечных продуктов: CO_2 и H_2O .

Промышленное производство уксусной кислоты включает следующие технологические стадии:

- 1) получение посевного материала;
- 2) подготовка питательной среды;
- 3) уксуснокислое брожение;
- 4) концентрация и розлив готового продукта.

Известны три способа производства уксусной кислоты.

Орлеанский (французский), или медленный способ. Окисление ведется в специальных чанах. Исходная питательная среда состоит из 2 %-ной уксусной кислоты и 4 %-ного сухого вина крепостью 9...12 %. Заражение уксуснокислыми бактериями происходит самопроизвольно из воздуха. Брожение ведут при температуре 30...20 °С, снижая температуру к концу брожения. В конце брожения получают уксус с содержанием 5...6 % кислоты. Уксус, полученный по Орлеанскому способу, обладает, так же как и вино, "букетом", придающим ему высокое качество.

Немецкий, или быстрый способ. Окисление спирта происходит в особых генераторах или чанах, заполненных буковыми стружками, на которых поселяются уксуснокислые бактерии. Большая поверхность стружек создает для бактерий хорошие условия аэрации. Перед началом процесса стружки пропитывают уксусной кислотой. Затем в них вносят затор (питательную среду), приготовленную из 6 %-ного уксуса и 3 %-ного этилового спирта. После окисления получают уксус, содержащий 9 %-ную уксусную кислоту. Затор,

окисляясь, одновременно фильтруется через эти же буковые стружки. Ежедневно полученную уксусную кислоту делят на две неравные части: $2/3$ его идут на приготовление нового затора и $1/3$ – на расфасовку.

В промышленных условиях *уксуснокислое брожение* проводят *непрерывным способом* при глубинном проточном культивировании уксуснокислых бактерий в батареях последовательно соединенных аппаратов. Для этого способа наилучшим сырьем для уксуснокислых бактерий является этиловый спирт, полученный из зернокартофельного сырья. Выращивание бактерий ведут при температуре $28...37$ °С при рН среды $3,0...3,2$ при концентрации спирта $7...15$ %. После накопления 8 %-ной уксусной кислоты развитие бактерий замедляется и при ее содержании в пределах $12...14$ % рост бактерий полностью прекращается.

На жизнедеятельность уксуснокислых бактерий большое влияние оказывает реакция среды. Принято считать, что оптимальный рН для их развития находится в пределах $3...3,2$, однако избыток уксусной кислоты в сбраживаемой среде угнетает жизнедеятельность бактерий-продуцентов. После накопления 8 % уксусной кислоты развитие бактерий замедляется и при содержании $12...14$ % кислоты полностью прекращается. Для сохранения естественной чистоты бактериальной популяции оптимальной считается концентрация кислоты около 10 %. Важным показателем является и предельная концентрация спирта в сбраживаемой среде. Для *Bacterium schiitzenbachii* она составляет $6...7$ % об., для *Bacterium curvum* – $9...14$ % об. В промышленности уксуснокислое брожение проводят в батареях, состоящей из пяти последовательно соединенных ферментаторов.

Перед розливом уксусную кислоту осветляют, пропуская через слой бентонита, или бентонит добавляют в уксусную кислоту и туда же вносят немного лимонной кислоты, после перемешивания производят отделение уксусной кислоты, пропуская ее через фильтр-пресс. Из 100 л безводного спирта получают $75...90$ кг уксусной кислоты. Из товарных форм уксусной кислоты известны: столовый уксус (6 и 9 %), чистая пищевая ($70...80$ %), чистая уксусная ($70...80$ %), безводная или ледяная ($98...99,8$ %). Для получения уксусной эссенции или ледяной уксусной кислоты уксусную кислоту концентрируют с помощью ректификации,

Кроме перечисленных товарных форм в кулинарии широко используют фруктовый уксус. Фруктовый уксус отличается от обычного уникальностью лечебных свойств и удивительным набором компонентов, так как в него практически без потерь переходят все полезные вещества фруктов (макро- и микроэлементы, витамины, ферменты, аминокислоты, уксусная, пропионовая, молочная, лимонная и другие кислоты). В технологию получения фруктового уксуса входят стадии измельчения сырья, приготовления сусла, спиртового брожения, фильтрации (процеживания) бражки, уксуснокислого брожения. Оптимальной для роста уксуснокислых бактерий считается температура $26...28$ °С. Через два-три месяца жизнедеятельности уксуснокислых бактерий винный спирт превращается в уксус, который отличается натуральной мутностью и ароматом фруктов.

Порядок выполнения работы

Вариант 1. Получение уксусной кислоты на синтетической среде Лойцянской

1. В колбы вместимостью 500 мл внести 50 мл указанной среды.
2. Определите рН среды при помощи рН-метра. Для этого прибор через адаптер подключите к сети переменного тока 220 В. Электроды (сравнения, вспомогательный и термокомпенсации) промыть дистиллированной водой, осушить и погрузить в исследуемую жидкость. Уровень погружения электрода в жидкость, для бесперебойной работы рН-метра, должен быть выше 16 мм. Включить прибор нажатием кнопки On/Off, а кнопкой mV/pH выбрать режим измерения рН. Через $30...60$ с снять показания и выключить прибор кнопкой On/Off.
3. Колбы со средами, закрыв ватной пробкой и бумажным колпачком, простерилизовать в автоклаве в течение 30 мин при температуре 121 °С.

4. В охлажденную стерильную среду внести 0,5 мл посевного материала. В среду Лойцянской добавить 2-3 капли 96 % этилового спирта.

5. Колбы поместить в термостат при 30 °С. В среду Лойцянской ежедневно вносить 2-3 капли 96 % этилового спирта.

6. Первую колбу извлечь из термостата через семь дней.

7. По окончании выращивания *Acetobacter aceti* описать культуральные признаки (наличие пленки, ее вид, осадок, запах и т.д.) и микроскопическую картину (форму, размер бактерий).

8. Отделить накопившуюся биомассу фильтрованием через складчатый фильтр.

9. Определить рН фильтрата при помощи рН-метра.

10. Провести качественную реакцию на уксусную кислоту. Для этого 10 мл фильтрата перенести пипеткой в стакан на 100 мл, добавить одну – две капли фенолфталеина и нейтрализовать 10 %-ным раствором соды (до появления устойчивой бледно-розовой окраски). Если в фильтрате присутствует уксусная кислота, то при добавлении раствора хлорида железа (III), раствор приобретет красно-бурое окрашивание вследствие образования ацетата железа (III).

11. Определить количество образовавшейся уксусной кислоты в процентах. Для этого 10 мл фильтрата перенести пипеткой в стакан на 100 мл, добавить 10 мл воды и 2-3 капли фенолфталеина, титровать 0,1 н раствором NaOH до слабо-розовой не исчезающей окраски. Количество образовавшейся уксусной кислоты в процентах вычислить по формуле (1.1):

$$x = \frac{0.006 \cdot a \cdot K}{b} \cdot 100\%, \quad (1.1)$$

где а – число миллилитров 0,1 н раствора NaOH, пошедшего на титрование;

б – число миллилитров культуральной жидкости, взятой для титрования;

К – поправка щелочи;

0,006 – количество граммов уксусной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1н раствора NaOH.

12. Последующие колбы извлечь из термостата через 14 (21, 28) дней и повторить пп. 7 – 11.

13. Все полученные результаты свести в таблицу 1.1.

14. Построить графики зависимости накопления уксусной кислоты и уровня рН от длительности культивирования.

Вариант 2. Получение фруктового уксуса из сухого вина

1. Приготовить сухое вино с концентрацией спирта 6...7 % об. Для этого с помощью спиртометра определить содержание алкоголя и довести его количество до требуемого путем добавления кипяченой водопроводной воды.

2. В колбы вместимостью 500 мл цилиндром налить 100 мл подготовленного сухого вина, внести пипеткой 1 мл посевного материала и закрыть ватной пробкой.

3. Колбы поместить в термостат при 30 °С. Далее выполнять работу согласно пунктам 6 – 13 варианта 1.

Таблица 1.1

Экспериментальные данные

Время культивирования, сут.	Культуральные признаки	Морфологические признаки	Уровень рН	Количество уксусной кислоты, %
0				
7				
14				
21				
28				

Контрольные вопросы

1. Почему органические кислоты, полученные микробиологическим синтезом, предпочтительнее использовать в пищевой промышленности, чем кислоты, полученные органическим синтезом?
2. Какие микроорганизмы являются продуцентами уксусной кислоты?
3. Приведите уравнение процесса образования уксусной кислоты.
4. Перечислите товарные формы уксусной кислоты. Чем отличаются технологии получения различных товарных форм?
5. Как производится выращивание *Acetobacter aceti* в лабораторных условиях на синтетической среде Лойцянской и на основе сухого вина?
6. Перечислите культуральные и морфологические признаки *Acetobacter aceti*.
7. Какие факторы влияют на процесс культивирования уксуснокислых бактерий и количество образовавшейся уксусной кислоты?
8. Какой способ используют для промышленного получения уксусной кислоты и чем он отличается от используемых ранее способов?

Лабораторная работа № 2 «Получение безалкогольного напитка при выращивании комплекса микроорганизмов чайного гриба»

Цель работы: ознакомиться с симбиозом микроорганизмов в природе и использованием этого явления в практических целях.

Теоретические предпосылки

В природе широко распространен симбиоз микроорганизмов, и это можно наблюдать в чайном грибе, в котором совместно развиваются дрожжи (дрожжевые грибки) и уксуснокислые бактерии. Таким образом, чайный гриб – это культура двух одновременно живущих микроорганизмов, образующих толстую слизистую пленку на поверхности подсахаренного чайного настоя. В результате их жизнедеятельности и образуется чайный квас, приобретающий слегка газированный кисловато-сладкий вкус. В банке готового чайного настоя можно видеть, что на поверхности прозрачно-буровой жидкости "плавает" толстый диск: сверху белый, плотный и блестящий, снизу – сероватый и рыхлый. Научное название чайного гриба – медузомицет – обусловлено сходством с медузой.

Тело чайного гриба представляет собой колонию дрожжей и уксуснокислых бактерий. Дрожжи, занимающие нижнюю часть слоевища гриба, перерабатывают содержащиеся в растворе сахар на спирт и углекислый газ (диоксид углерода), тем самым подготавливая питательную среду для уксуснокислых бактерий, которые склеены между собой особым веществом и образуют верхнюю, плотную часть гриба. Состав уксуснокислых бактерий неодинаков, а поэтому и вырабатываемые ими вещества неоднородны. Одни из них окисляют образованный дрожжами этиловый спирт в уксусную кислоту, другие превращают сахарозу в глюкозу и фруктозу и окисляют моносахара до глюконовых кислот. Образовавшиеся кислоты используются дрожжами для синтеза витаминов, необходимых для развития уксуснокислых бактерий.

Предполагают, что колонии дрожжевых грибков и уксуснокислых бактерий произошли от микроорганизмов, населяющих почвы Приморского края, которые с мельчайшими частицами земли, прилипшими к корням женьшеня или копытня, попадали в настой и, очутившись в благоприятных условиях, бурно размножились, образуя колонию в виде пленки на поверхности жидкости. Вероятно, так и возникла культура чайного гриба, которая затем распространилась чуть ли не по всему земному шару.

Во многих аптеках Европы настой чайного гриба продается и пользуется большой популярностью. Концентрированный чайный гриб, запатентованный в Германии под названием "Комбука", сохраняет все необходимые активные вещества чайного гриба, за исключением уксусной кислоты и спирта. Установлено, что в состав напитка чайного гриба входят вещества, жизненно необходимые для организма человека: витамины С, группы

В, Р и D; органические кислоты (уксусная, глюкуроновая, щавелевая, молочная, лимонная); ферменты (каталаза, амилаза, протеаза, липаза). Кроме того, в нем присутствуют антибиотики, подавляющие развитие стафилококков, стрептококков и других бактерий. Наиболее благотворное влияние на организм оказывает глюкуроновая кислота, обладающая дезинтоксикационным действием. Молочная кислота уничтожает вредную микрофлору кишечника и нормализует его функции. Чайный гриб эффективен при атеросклерозе, хорошо снимает повышенное артериальное давление, способствует уменьшению и даже прекращению головной боли, нормализует сон. Таким образом, постоянное употребление настоя чайного гриба улучшает самочувствие и даже излечивает от некоторых болезней.

Для получения наиболее качественного напитка следует брать только кипяченую воду, так как вода из-под крана содержит много кальция, который в кипяченой воде выпадает в осадок. Кальций в некипяченой воде соединяется с глюкуроновой кислотой, образуя на дне сосуда осадок глюконата кальция.

Порядок выполнения работы

Лабораторная работа проводится на двух занятиях. На первом занятии готовят среду для развития чайного гриба и его посев. На втором проводят анализ готового напитка.

Занятие 1

Для того чтобы получить качественный "чайный гриб", необходимо тщательно соблюдать чистоту на стадии его приготовления. Для создания оптимальных условий рекомендуется концентрация сахара в напитке 10 %, температура окружающей среды 25...30 °С, продолжительность настаивания – одна-две недели.

Обязательный компонент жидкости, в которой развивается гриб, – настой чая, который служит источником азотистых веществ для дрожжей и уксуснокислых бактерий и сахарозы – источник углерода.

1. Вскипятить 1 л воды, добавить в воду одну чайную ложку (или один пакетик) чая.

2. Через 15...20 мин, когда раствор настоится, добавить в него 100 г сахарозы (сахарного песка), тщательно перемешать, охладить до температуры 25...30 °С.

3. Подготовленный раствор отфильтровать через капроновое или металлическое ситечко непосредственно в подготовленную банку (объемом 2–3 литра).

4. Внести в подготовленный чайный раствор слой чайного гриба, отделенного от уже растущего и используемого в качестве маточной культуры чайного гриба. Культивирование проводить при комнатной температуре (20...25 °С), накрыв банку с грибом салфеткой.

Полученный напиток может быть использован для определения в нем некоторых продуктов метаболизма. В банку по мере необходимости заливают раствор чая и сахарный песок для получения новой порции чайного напитка.

Разросшийся чайный гриб в дальнейшем можно разрезать на мелкие кусочки, как по горизонтали, так и по вертикали и засеять новые емкости с подготовленным чайно-сахарным раствором.

Занятие 2

Для оценки качества напитка определяют количество накопившихся кислот.

1. Определить уровень pH (см. лабораторную работу 3.1). Обычно pH настоя имеет кислую реакцию в зоне pH от 5 до 3.

2. Определить массовую долю молочной кислоты титрометрическим методом.

Метод основан на нейтрализации молочной кислоты гидроокисью натрия (омыление ангидридов лактиломолочных кислот щелочью) при нагревании и нейтрализации избытка щелочи серной кислотой.

В коническую колбу со шлифом объемом 250 мл внести 10 мл настойки чайного гриба, 80 мл дистиллированной воды и 20 мл раствора 1 н NaOH, перемешать и кипятить с обратным холодильником в течение 5 мин.

Затем охладить, предварительно закрыв колбу пробкой с трубкой, наполненной натронной известью, добавить 3 капли раствора фенолфталеина и титровать раствором 1н H₂SO₄ до обесцвечивания.

Параллельно провести контрольный опыт. В коническую колбу со шлифом объемом 250 мл внести 20 мл 1 н NaOH, 90 мл дистиллированной воды; кипятить с обратным холодильником в течение 5 мин; охладить, закрыв ее пробкой с трубкой, наполненной натронной известью; добавить 3 капли раствора фенолфталеина и титровать 1н H₂SO₄ до обесцвечивания.

1. Массовую долю молочной кислоты X, % вычислить по формуле (2.1):

$$X = \frac{(v_{оп} - v_{к}) \cdot K \cdot 0,09}{100}, \quad (2.1)$$

где V_{оп} – объем 1н H₂SO₄, израсходованной на титрование избытка 1н NaOH опытной пробы, мл;

V_к – объем 1н H₂SO₄, израсходованной на титрование избытка 1н NaOH контрольной пробы, мл;

K – поправочный коэффициент для раствора 1н NaOH;

0,09 – масса молочной кислоты, соответствующая 1 см³ 1н NaOH, г/см³;

V – объем раствора чайного гриба, взятого на анализ, мл;

100 – коэффициент пересчета на 100 мл раствора чайного гриба.

4. Определить массовую концентрацию уксусной кислоты (титруемую кислотность) по количеству гидроокиси натрия, израсходованной на титрование уксусной кислоты, содержащейся в растворе чайного гриба.

В стакан пипеткой внести 5 мл раствора чайного гриба, добавить 10 мл дистиллированной воды и две-три капли раствора фенолфталеина и титровать раствором 0,1н NaOH до появления не исчезающего в течение 30 с розового окрашивания.

5. Массовую концентрацию уксусной кислоты (титруемую кислотность P) в г/100 мл вычислить по формуле (2.2):

$$P = \frac{0,06 \cdot 100v_1}{v_2}, \quad (2.2)$$

где 0,06 – количество уксусной кислоты в г, соответствующее 1 мл раствора 0,1н NaOH;

V₁ – количество раствора 0,1н NaOH, пошедшего на титрование;

V₂ – количество раствора чайного гриба, взятого на титрование, мл.

За окончательный результат принять среднеарифметическое P двух параллельных определений P₁ и P₂.

2. В виде таблицы 2.1 записать, как в процессе культивирования менялись физико-химические и органолептические показатели настоя чайного гриба.

Результаты анализа физико-химических и органолептических показателей настоя чайного гриба

Время культивирования, сут.	Показатели			Органолептическая
	уровень pH	количество молочной кислоты, %	количество уксусной кислоты, %	
5				
7				
10				
14				

Контрольные вопросы

1. Симбиоз каких микроорганизмов представляет собой биомасса чайного гриба?
2. Чем вызвано научное название чайного гриба – медузомицет?
3. В чем проявляются симбиотические отношения комплекса микроорганизмов чайного гриба?
4. Какие компоненты напитка на основе чайного гриба делают его полезным для здоровья?
5. Почему для выращивания чайного гриба следует брать кипяченую воду?
6. Какие компоненты питательной среды служат источниками углерода и азота в процессе культивирования чайного гриба?
7. Какие условия необходимо поддерживать в процессе культивирования биомассы чайного гриба?
8. Чем отличаются методики определения уксусной и молочной кислот в культуральной жидкости?
9. При какой продолжительности культивирования чайного гриба достигаются оптимальные органолептические показатели?
10. Как взаимосвязаны физико-химические и органолептические показатели настоя чайного гриба?

Лабораторная работа № 3 «Изучение особенностей биосинтеза лимонной кислоты при поверхностном культивировании микроскопических грибов»

Цель работы: изучить влияние состава питательной среды на биосинтез лимонной кислоты при культивировании микроскопических грибов *Aspergillus niger*.

Теоретические предпосылки

Лимонная кислота $\text{CH}_2\text{COOH}-\text{CONSOOH}-\text{CH}_2\text{COOH}$ является трехосновной оксикислотой, кристаллизующейся из водных растворов с одной молекулой воды в виде бесцветных прозрачных кристаллов. Производство лимонной кислоты основано на культивировании микроскопических грибов *Aspergillus niger*, которые сбраживают сахара питательной среды, образуя лимонную кислоту. В качестве углеродсодержащего компонента питательной среды используют мелассу, содержащую 45...48 % сахарозы. Кроме того, в состав питательной среды входят нитрат аммония, моно- или дифосфат калия, сульфат магния, цинка, железа.

Культивирование продуцента проводят поверхностным или глубинным способом. Производство лимонной кислоты включает следующие основные технологические стадии: получение посевного материала, подготовку мелассы к сбраживанию, сбраживание растворов мелассы в лимонную кислоту с последующим отделением мицелия, выделение из сброженных растворов лимонной кислоты и получение ее в кристаллическом виде.

В лабораторной работе изучается влияние концентрации мелассы в питательной среде на процесс накопления лимонной кислоты микроскопическими грибами. Биохими-

ческая активность культуры *Aspergillus niger* оценивается гравиметрическим (по массе мицеллиальной пленки), титриметрическим (по объему щелочи, пошедшей на титрование культуральной жидкости) и потенциометрическим (по изменению кислотности среды в процессе культивирования) методами.

Для оценки биохимической активности используют следующие показатели:

- 1) содержание лимонной кислоты в 1 мл культуральной жидкости

$$x = \frac{0,007 \cdot a}{b}, \quad (3.1)$$

где а – число мл 0,1н раствора NaOH, пошедшего на титрование;

б – число мл культуральной жидкости, взятой на титрование;

0,007 – количество грамм лимонной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1н раствора NaOH;

- 2) выход лимонной кислоты в процентах от исходного сахара

$$y = \frac{x \cdot V_{\text{КЖ}}}{c} \cdot 100\%, \quad (3.2)$$

где $V_{\text{КЖ}}$ – объем культуральной жидкости, мл;

с – содержание сахара в исходной питательной среде, г;

- 3) продуцирующая способность культуры

$$П = \frac{x \cdot V_{\text{КЖ}}}{m}, \quad (3.3)$$

где т – масса мицеллиальной пленки, г;

- 4) рН исходной питательной среды и культуральной жидкости.

Лабораторная работа проводится на двух занятиях: на первом – готовят питательную среду, измеряют ее кислотность, стерилизуют и засевают культурой гриба *Aspergillus niger*; на втором – анализируют биохимическую активность продуцента, определяя рН культуральной жидкости, массу мицеллиальной пленки и объем пошедшего на титрование лимонной кислоты раствора едкого натра.

Порядок выполнения работы

1. Приготовить 100 мл жидкой питательной среды в конической колбе из компонентов по одному из вариантов, указанных в таблице 3.1.

Таблица 3.1

Состав питательной среды

Компоненты питательной среды	Варианты				
	1	2	3	4	5
Меласса, г (содержание сахарозы 46%)	60	50	40	30	20
Раствор солей, мл, концентрацией, мг/мл: NH ₄ NO ₃ – 2,3; KH ₂ PO ₄ – 0,2; MgSO ₄ ·7H ₂ O – 1,0; ZnSO ₄ – 0,02; FeSO ₄ ·7H ₂ O – 0,06	10				
Вода водопроводная, мл	60	65	70	75	80

Взвесить на технических весах пустой стаканчик, поместить в него необходимое количество мелассы, навеску перенести в коническую колбу, смывая остатки мелассы со стенок и дна стаканчика указанным в таблице количеством воды, затем добавить в колбу мерным цилиндром 10 мл раствора солей.

2. Измерить кислотность питательной среды рН-метром. Для этого включить прибор в сеть; промыть электроды дистиллированной водой, просушить фильтровальной бумагой и опустить в стаканчик с питательной средой; установить переключатель вида ком-

пенсации (КТ-Р) в положение "КТ"; переключатель вида измерения (рН, °С, mV) установить в положение "рН"; после установления показаний считать результат измерения.

3. Перелить питательную среду из стаканчика рН-метра в коническую колбу; закрыть колбу ватной пробкой и бумажным колпачком, подписать и стерилизовать 15 мин при 1 атм. в автоклаве.

4. Внести в остывшую до температуры 30 °С питательную среду посевной материал. Для этого в пробирку с культурой *Aspergillus niger* на сусло - агаре залить стерильную воду до верхнего края косяка. Проводя бактериологической петлей по поверхности косяка, перенести в воду часть темного конидиального слоя. Полученную водную суспензию конидий перемешать, отобрать стерильной пипеткой 0,5 мл и вылить в колбу со стерильной средой. Поместить колбу в термостат с температурой 30 °С на семь суток.

5. Изучить биохимическую активность культуры. Для этого отделить мицелий от культуральной жидкости фильтрованием и определить массу мицеллиальной пленки взвешиванием на технических весах. Измерить объем

культуральной жидкости мерным цилиндром, измерить рН культуральной жидкости рН-метром. Определить содержание лимонной кислоты в культуральной жидкости путем титрования щелочью: поместить пипеткой 2 мл фильтрата в коническую колбу; добавить мерным цилиндром 200 мл дистиллированной воды, 3-4 капли фенолфталеина и титровать из бюретки 0,1н NaOH до слабозеленой окраски.

6. Рассчитать содержание лимонной кислоты в 1 мл культуральной жидкости по формуле (3.1), выход лимонной кислоты в процентах от исходного сахара по формуле (3.2) и продуцирующую способность культуры по формуле (3.3). Построить графические зависимости этих показателей от концентрации сахарозы в питательной среде.

7. Результаты измерений и расчетов свести в таблицу 3.2.

Таблица 3.2

Экспериментальные и расчетные показатели

Биохимические показатели	Варианты				
	1	2	3	4	5
Количество сахара в питательной среде, г/л					
рН питательной среды					
рН культуральной жидкости					
Объем культуральной жидкости, мл					
Объем 0,1 н NaOH на титрование, мл					
Масса мицеллиальной пленки, г					
Содержание лимонной кислоты в 1 мл культуральной жидкости, г/мл					
Выход лимонной кислоты от исходного сахара, %					
Продуцирующая способность, г/г					

Контрольные вопросы

1. Назовите органические кислоты, которые получают микробиологическим синтезом.
2. Какие микроорганизмы являются продуцентами лимонной кислоты?
3. Какие вещества, входящие в состав питательной среды, являются источниками углерода, азота, фосфора, макро- и микроэлементов?
4. Напишите суммарное уравнение процесса образования лимонной кислоты.
5. Какие методы изучения биохимической активности культуры применяются в этой работе?
6. Назовите основные технологические стадии производства лимонной кислоты.
7. Как рассчитать выход лимонной кислоты?
8. Что такое продуцирующая способность культуры?

9. Как будет отличаться величина продуцирующей способности пленок гриба *Aspergillus niger* одинаковой массы, используемых для биосинтеза лимонной кислоты, если на титрование одной культуральной жидкости пошло 10 мл 0,1н раствора NaOH, а другой – 2,5 мл?

10. Какие методы используют для выделения лимонной кислоты из культуральной жидкости?